Aus der Untersuchungsabteilung (Leiter Prof. Dr. Lubinski)
des Hygienischen Instituts der Universität Breslau
Direktor: Professor Dr. Prausnitz

Ueber die Bildung humoraler Antikörper durch perorale Immunisierung mit Typhus- und Cholera - L - Impfstoff der I. G. Farbenindustrie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung

der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Helmut Goretzki
aus Breslau

Breslau 1931
Druck Anton Schreiber, Breslau

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Breslau

I. Berichterstatter: Professor Dr. Lubinski

II. " Professor Dr. Prausnitz

.....

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner Mutter
in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548224_0059

Der Mund ist die natürliche Eintrittspforte nicht nur für Nahrungsmittel, sondern auch für die Erreger der wichtigsten Infektionskrankheiten, soweit sie den Darmtraktus betreffen. Sehen wir das Ueberstehen der Krankheit selbst als die natürliche Form einer spezifischen Immunisierung an, so können wir mit Recht sagen, daß der von der Natur vorgezeichnete Weg „die orale Immunisierung" ist. Im Gegensatz dazu aber werden bei der jetzt üblichen Art der künstlichen Immunisierung die Antigene nicht oral, sondern parenteral — meistens subcutan, mitunter intravenös — appliziert.

Die Versuche, den durch die Natur vorgezeichneten Weg nachzuahmen, reichen schon längere Zeit zurück. Sagenhaft sind die Versuche des Königs Mithridates, sich gegen Vergiftungen dadurch zu schützen, daß er kleinste Mengen giftiger Pilze verzehrte (Dieudonné), und eben das gleiche gilt von den Berichten des Plinius, wonach Schlangenbeschwörer das Wasser tranken, in dem die Schlangen sich aufhielten, um sich durch die geringen Mengen des Giftes, das darin enthalten war, gegen die Bißwirkung zu schützen. Erst viele Jahrhunderte später hat Paul Ehrlich die Versuche einer Immunisierung per os aufgenommen.

Durch Verfüttern von Ricin und Abrin in Form von Kekspillen konnte er Mäuse wirksam gegen diese Toxine immunisieren und in ihrem Blut auch Antitoxine nachweisen, indem Serum der immunisierten Tiere im Gemisch mit Toxin anderen, nicht immunen Tieren injiziert, diese vor der Wirkung des Giftes bewahrte, während Kontrolltiere, die nur Toxin erhalten hatten, typisch zugrunde gingen. Noch bessere Ergebnisse wurden allerdings erzielt, wenn an die perorale Immunisierung noch eine subcutane angeschlossen wurde.

Ehrlichs Erfolge haben dann zu weiteren Versuchen peroraler Immunisierung geführt. Als einer der ersten hat Löffler die von Ehrlich erzielte antitoxische Immunität auf das Gebiet der antibakteriellen zu übertragen versucht. Zu

diesem Zweck verfütterte er abgetötete Mäusetyphusbazillen an Feldmäuse, die für diese Erreger sehr empfänglich sind. Trotz relativ ungeheurer Mengen, die er den Tieren gab — innerhalb von 15 Tagen elfmal das Wachstum von je $^1/_2$ Petrischale — waren die Erfolge sehr bescheiden. Abgesehen davon, daß von acht Tieren vier Tiere bereits bei der Immunisierung zugrunde gingen, überlebte von den restlichen vier nur eins die nachfolgende Infektion mit lebenden Erregern. Da mit dem gleichen Antigen, subcutan und intraperitoneal gegeben, überhaupt keine Erfolge zu erzielen waren und auch bei der peroralen Immunisierung keine Agglutinine im Serum nachgewiesen werden konnten, nahm Löffler an, daß die schwache, von ihm erzielte Wirkung der peroralen Immunisierung auf einer durch sie bedingten, lokalen Undurchlässigkeit des Darmrohres beruhe, und demzufolge keine allgemeine, sondern eine lokale Immunität darstelle.

Weitere Versuche, die sich mit der Immunisierung gegen Ruhrbazillen befaßten, weil hier die subcutane Impfung sehr starke Reaktionen auslöst, und andere Versuche, die mit Mäusetyphusbazillen angestellt worden sind, haben sehr schwankende Ergebnisse gezeitigt, indem ein Teil der Tiere die nachfolgende Infektion überlebte, die Mehrzahl der Tiere aber zugrunde ging. Antikörperbildung ist nur von einzelnen Autoren und auch da nur sehr unregelmäßig nachgewiesen worden.

Einen neuen Anstoß erhielten die Versuche der peroralen Immunisierung durch die Arbeiten von Wassermann und Besredka. Beide glaubten auf Grund ihrer Forschung annehmen zu können, daß bei der Immunisierung die Entstehung einer lokalen Immunität von ausschlaggebender Bedeutung sei. Wassermann behauptet, eine erhöhte Antikörperbildung an der Stelle der Injektion des Antigens gefunden zu haben. Diese „sessilen Antikörper" blieben in der Zelle selbst und würden nicht in den Blutkreislauf ausgeschwemmt. Die Versuche Wassermanns haben eine Bestätigung nicht gefunden und sind von Paetsch widerlegt worden.

Besredka kam auf Grund seiner Studien an Milzbrandbazillen zu der Auffassung, daß gegen die von ihm als dermatotrop angesehenen Milzbrandbazillen die stärkste Antikörperbildung in der Haut erfolgte. Analog nahm er für diejenigen Bakterien, die im Darmtraktus sich ansiedeln, eine besondere Affinität zur Darmschleimhaut an und schlug

daher für diese eine orale Immunisierung vor. Hierbei aber ergab sich die Schwierigkeit, daß sich die normale Darmschleimhaut gegen die abgetöteten Bakterien als undurchlässig erwies. Um diesem Mangel abzuhelfen, verfütterte Besredka vor dem eigentlichen Antigen sterile Ochsengalle, von der er beobachtet hatte, daß sie die Schleimlage der Mukosa des Darmes löst. Dadurch wird das Epithel geschädigt und die Resorption der abgetöteten Bakterien ermöglicht. Für den gleichen Zweck verwendete Wassermann das Natrium benzoicum, welches gleichfalls die Durchlässigkeit der Darmwand für das Antigen erhöhen soll.

Was die Gallesensibilisierung anbetrifft, so soll sie nach Angabe Besredkas völlig unschädlich sein. Bei den zahlreichen Nachprüfungen aber, die von verschiedenen Autoren durchgeführt worden sind, ist diese Auffassung nicht in vollem Umfange bestätigt worden. Morison, Naidu, Avari und Srodowski teilen zum Teil recht erhebliche Verluste an Tieren mit, die auf die Galleverabfolgung zurückgeführt werden. Bei der Sensibilisierung mit dem Natrium benzoicum sind bisher Schädigungen nicht beobachtet worden.

Was nun die bisher erzielten Erfolge anbetrifft, so muß man zugeben, daß es gelingt, auch auf oralem Wege eine gewisse Immunität gegen nachfolgende Infektion zu erzielen. Nur sind die Ergebnisse bisher sehr schwankend. Vom vollen Erfolg bis zum völligen Versagen finden sich alle Uebergänge. Dieses Schwanken findet sich sogar in denselben Versuchsreihen. Die beiden Extreme des vollen Erfolges und des gänzlichen Versagens sind dabei recht selten, die Unregelmäßigkeit ist weitaus das Häufigere. Obwohl nun die Methoden der Immunisierung, die verwendeten Stämme, ihre Virulenz und ihr antigenes Vermögen bei den einzelnen Autoren sicherlich recht verschieden waren und so vielleicht die Verschiedenheit der Resultate erklären können, reicht es doch zu einer völligen Klärung nicht aus, sondern wir müssen annehmen, daß die Verschiedenheit der Ergebnisse, die sich, wie bereits erwähnt, innerhalb der Versuchsreihen desselben Autors bemerkbar machen, auf die Unzulänglichkeit der bisherigen Methode der oralen Immunisierung zurückzuführen sind.

Die einzelnen Autoren haben versucht, den Beweis für das Vorhandensein einer Immunität auf zwei Arten zu erbringen: teils durch Nachinfektion, teils durch den Nachweis der spezifischen Veränderungen im Serum.

Der erste Weg ist beim Versuchstier zwar durchzuführen, stößt aber doch auf gewisse Schwierigkeiten, von denen ich nur erwähnen möchte, daß bei Infektion durch Verfüttern — also dem natürlichen Ansteckungsmodus — die Infektionsdosis nicht genau gleich gehalten werden kann, wodurch allein schon manche Verschiedenheiten der Ergebnisse ihre Erklärung finden können, während die parenterale Infektion zwar eine genaue Dosierung gestattet, aber etwas den natürlichen Verhältnissen nicht Entsprechendes darstellt. Beim Menschen kommt eine künstliche Nachinfektion natürlich nicht in Frage, hier muß an die Stelle des Versuchs die Erprobung in der Praxis treten; Morbiditäts- und Letalitätsstatistiken sind hier die Beweismittel, die aber nur bei schärfster Kritik beweisend sind. Aber auch hier liegen die Verhältnisse, wie wir immer mehr erkennen, nicht so, daß man einfach die Erkrankungs- und Sterbeziffern der Vorbehandelten mit denen der Nichtvorbehandelten vergleichen kann, selbst nicht, wenn dies bei ein und derselben Epidemie möglich ist. Eine ganze Reihe von Faktoren, die mit der künstlichen Immunisierung nichts zu tun haben, können dabei eine ausschlaggebende Rolle spielen. Ich möchte nur erwähnen, daß der Einfluß der stummen Infektion, der sozialen Lage u. ä. nur schwer in Rechnung zu setzen ist und auch darauf hinweisen, daß bei freiwilliger Immunisierung diejenigen, die sich immunisieren lassen, zu den Kreisen gehören werden, die auch sonst die Schutzmaßnahmen der Hygiene in ausreichenderem Maße befolgen werden und daher einer Infektionsgefahr weniger ausgesetzt sind.

Der andere Weg, die Resorption des Antigens zu beweisen und die erfolgte Immunisierung wahrscheinlich zu machen, ist der Nachweis der spezifischen Veränderungen des Serums, die Entstehung von Agglutininen, Präzipitinen, komplementbindenden und insbesondere bakteriolytischen Antikörpern. Auch dieser Weg ist vielfach begangen worden. Auch hier sind die Ergebnisse keineswegs einheitlich; es überwiegen durchaus die negativen Befunde sowohl beim Menschen als auch im Tierversuch.

Bevor ich nun zur Schilderung meiner eigenen Versuche übergehe, will ich noch einige der wichtigsten Arbeiten, die erschienen sind, kurz anführen. Die vorliegende Literatur ist bereits sehr groß, ich will mich daher darauf beschränken, diejenigen Arbeiten anzuführen, bei denen anzuerkennende brauchbare Resultate erzielt worden sind. Die

Versuche, zu einer peroralen Immunisierung zu gelangen, wurden in der Hauptsache mit Typhus, Paratyphus, Ruhr, Cholera und Mäusetyphus, der die Verhältnisse des humanen Typhus am Tier am ehesten reproduzieren kann, angestellt. Mehr in den Hintergrund treten die Untersuchungen über eine perorale Immunisierung gegen Diphterie, Pneumokokken, Staphylokokken und Rotlauf. Von den Berichten über Erfolge der peroralen Immunisierung bei Epidemien, die durch Statistiken gefunden worden sind, bringe ich aus den vorher schon erwähnten Gründen nichts und verweise auf die Literatur von Pfeiffer und Lubinski. Ich beschränke mich auf die Berichte über die serologischen Veränderungen nach peroraler Immunisierung.

Bei Immunisierungen von Menschen hatten bisher Hoffstädt, Martin und Thompson mit einer Trippelvakzine abgetöteter Typhus-, Paratyphus A- und B-Bazillen den besten Erfolg zu verzeichnen. Sie erzielten damit bei 93 Studenten in 100 Prozent einen positiven Widal für Typhus, in 84 Prozent für Paratyphus A und in 57,4 Prozent für Paratyphus B. Ottolenghi und Brotzu erzielten bei Typhus einen Titer von 1 : 500. Pijper und Dau fanden drei bis vier Wochen nach der Immunisierung ein Agglutinationsvermögen von 1 : 1500 bis 1 : 3000 für Typhus. Bei anderen Autoren, z. B. bei Rosa, zeigte dagegen von 33 mit Typhus-Paratyphusimpfstoff immunisierten Personen 30 Tage nach der Einnahme des Impfstoffes nur eine einen positiven Widal von 1 : 200. Auch Zoboli fand nur bei einem Teil der Versuchspersonen eine Agglutinationswirkung, die über eine Serumverdünnung von 1 : 50 aber nicht hinausging. Neuerdings konnten Istrati und Sefeanesko ebenfalls Agglutinine nachweisen, und zwar soll dabei die Bildung umso größer sein, je häufiger das Antigen gegeben wird.

Im Tierversuch sind ähnliche Ergebnisse erzielt worden. So fanden Ottolenghi und Brotzu ein ähnliches Ergebnis wie bei der Immunisierung der Menschen. Sie erzielten auch hier einen Agglutinationstiter für Typhusbazillen von 1 : 250. Bakterizide Antikörper konnten von ihnen gleichfalls nachgewiesen werden. Masaki erzielte nach dem Verfüttern toter Choleravibrionen und vorheriger Gallesensibilisierung bei Kaninchen ebenfalls kräftige Agglutininbildung. Engelhardt und Ray erzielten bei Choleraimmunisierung einen Agglutinationstiter von 1 : 320. Bakterizide Antikörper konnten dagegen nicht nachgewiesen werden. Burke und La Verne Barnes erzielten mit der peroralen Typhus-

impfung bei Kaninchen einen Agglutinationstiter von 1:5000. Reiter fand ebenfalls nach oraler Immunisierung gegen Typhus bei Kaninchen einen Titer der Agglutination von 1:800. Lusena und Rovida konnten dagegen nur bei zwei von 22 Tieren, die von 47 die Immunisierung wiederum nur überstanden haben, Agglutinine nachweisen. Auch Yoshida konnte nur eine unregelmäßige, ganz schwache Schutzwirkung nach peroraler Typhus- und Paratyphus-Immunisierung erzielen. Hier fehlten Agglutinine völlig.

Zusammenfassend kann nur gesagt werden, daß es der peroralen Immunisierung bisher noch nicht gelungen ist, und es daher auch nicht berechtigt erscheint, die subcutane von Pfeiffer und Kolle inaugurierte aktive Schutzimpfung zu verdrängen, trotz einiger guter Erfolge, die damit von einzelnen Autoren doch erzielt worden sind. Dazu sind die Ergebnisse bisher zu unregelmäßig.

Diese widersprechenden Versuche haben im hiesigen Institut Pfeiffer und Lubinski veranlaßt, die Frage der peroralen Immunisierung erneut zu bearbeiten. Die Versuche wurden sowohl mit Choleravibrionen an Kaninchen, wobei das Antigen aus einer Aufschwemmung durch Hitze abgetöteter Vibrionen bestand, wie auch mit Typhusbazillen an Menschen unternommen, wobei von der Industrie gelieferter Impfstoff verwendet wurde. (Typhoral der I. G.-Farben und Typhusimmunoide von Laboschin.) Das Ergebnis der teils mit teils ohne Sensibilisierungsmittel (Galle, Natrium benz.) durchgeführten Immunisierungen war so gut wie negativ. Agglutinierende Antikörper waren überhaupt nicht, bakteriolytische bei einem Teil der Kaninchenversuche vorhanden aber in einer im Verhältnis zur parenteralen Immunisierung verschwindend geringen Menge. Dabei war es noch nicht einmal mit Sicherheit auszuschließen, daß dieser geringe Erfolg nicht doch auf parenteraler Applikation durch Fehler bei der Versuchsanordnung zurückzuführen ist.

Wenn ich nun nach diesen vielen Mißerfolgen doch noch weitere Versuche unternommen habe, so geschieht dies, weil die großen Vorteile, die eine brauchbare orale Immunisierung bieten würde, die Erprobung eines jeden neu herausgebrachten Impfstoffes erforderlich machen.

Eigene Versuche.

Meine Versuche habe ich mit dem neuen Präparat der I. G.-Farbenindustrie, dem Typhus- und Cholera-L-Impfstoff,

angestellt. Nach Angabe der Fabrik bestehen die Dragées des Typhus- sowohl wie des Choleraimpfstoffes aus einer im Vakuum eingedampften Kultur von Bazillen, denen ein apathogener Keim aufgeimpft worden ist, welcher die Bazillen lösen und die antigenen Stoffe von den Bazillenleibern freimachen soll. Tierversuche sollen ergeben haben, daß derartig freie Antigene, per os gegeben, ohne vorherige Sensibilisierung des Darmes resorbiert werden und zu immunisieren vermögen. Dieser Impfstoff, von dem drei Dragées für eine Immunisierung vorgesehen sind, hätte also gegenüber den bisherigen Verfahren den Vorteil, daß wir ohne Sensibilisierung des Darmes auskommen würden.

Versuche mit dem Choleraimpfstoff.

Für die Versuche der peroralen Immunisierung gegen Cholera verwendete ich Kaninchen, da diese erfahrungsgemäß zur Bildung von Antikörpern gegen Cholera besonders geeignet sind. Sie reagieren auf die intravenöse Injektion geringster Antigenmengen mit der Bildung von Agglutininen und Bakteriolysinen in starkem Maße. Die Versuchsserie bestand aus sechs Tieren, die in folgender Weise behandelt wurden:

Nach jedesmal 24stündigem Hungern wurden die Tiere an drei Tagen mit je einem Dragée gefüttert. Die Tiere zerkauten die ihnen in das Maul gesteckten Dragées, so daß eine Auflösung und Pipettenfütterung nicht nötig war. Sechs Stunden, nachdem die Tiere die Tabletten geschluckt hatten, erhielten sie Futter. Um den Turnus der Immunisierung zu variieren, wurden die sechs Tiere in drei Gruppen geteilt. Die erste Gruppe erhielt die drei Dragées innerhalb von sechs Tagen, so daß Hungertag und Fütterungstag miteinander abwechselten. Bei der zweiten Gruppe wurde dieser Fütterungsgang nach zehn Tagen wiederholt, so daß sie im ganzen sechs Dragées erhielten. Bei der dritten Gruppe wurde der Zwischenraum zwischen dem Verfüttern der einzelnen Dragées auf fünf Tage erweitert. Zehn Tage nach der letzten Immunisierung entnahm ich den Tieren Blut zur Untersuchung auf das Vorhandensein von agglutinierenden, bakteriziden und komplementbindenden Antikörpern.

Da mehrfach die Anschauung vertreten wird, daß bei der peroralen Immunisierung die Immunkörperbildung langsam vonstatten geht und erst nach längerem Zeitraum Antikörper auftreten sollen, wurde vier Tieren nach acht Wochen

noch einmal Blut entnommen und nachuntersucht. Zwei Tiere waren zwischen der zweiten und dritten Blutentnahme eingegangen. Daß das Antigen irgendwie daran beteiligt war, dafür habe ich keine Anhaltspunkte. Sektionsbefund war o. B.

Um zu prüfen, ob das Antigen bei parenteraler Zuführung wirksam ist, wurden einem Tier die in Kochsalzlösung aufgelösten Dragées subcutan einverleibt. Hierfür wurde ein Dragée in 10 ccm 0,8 % Kochsalzlösung aufgelöst und hiervon 4 ccm injiziert. Nach fünf Tagen wurde die Injektion mit der doppelten Menge wiederholt. Intravenös konnte nicht gespritzt werden, da die Dragées infolge ihrer Zusammensetzung nicht völlig gelöst wurden. Zehn Tage nach der zweiten Injektion erfolgte die Blutentnahme.

Prüfung auf Agglutinine.

Zum Nachweis von agglutinierenden Antikörpern verwendete ich den Choleravibrio El Tor, der im Hygienischen Institut der Universität Breslau wegen seiner gut agglutinierenden Eigenschaften verwendet wird. 18stündige Kultur eines Schrägagarröhrchens wurde mit Kochsalzlösung abgeschwemmt und zu vorher hergestellten fallenden Serumverdünnungen hinzugegeben. Dieses Gemisch wurde für zwei Stunden in den Brutraum gestellt und am nächsten Morgen das Ergebnis mit dem Agglutinoskop abgelesen. Bei keinem der sechs Versuchstiere waren Agglutinine nachzuweisen, weder in den zehn Tagen nach der Immunisierung noch in den acht Wochen später entnommenen Seren. Nicht einmal in einer Serumverdünnung von 1 : 20. Auch das parenteral vorbehandelte Tier zeigte keine Agglutination.

Prüfung auf komplementbindende Antikörper.

Weiterhin untersuchte ich die gewonnenen Sera auf Gehalt an komplementbindenden Antikörpern. Für diesen Zweck wurde ein Antigen aus mehreren in der Sammlung des Instituts vorhandenen Cholerastämmen kombiniert. Es waren dies die Stämme Cholera Py (Berlin), Lamsdorf, Rangoon, Aegypten, Calcutta und Hamburg. Je eine 18stündige Kultur der verschiedenen Vibrionenstämme wurde mit 0,8 % Kochsalzlösung abgeschwemmt und die Aufschwemmung acht Tage im Brutschrank belassen. Darauf wurde das Antigen, um einen bakterienfreien Extrakt zu gewinnen, zentrifugiert, die klare überstehende Flüssigkeit abgegossen und so ein von Bakterien-

leibern fast freier Extrakt gewonnen. Die weitere Aufbewahrung des Antigens erfolgte dann im Eisschrank.

Vorversuche ergaben, daß dem Antigen in unverdünntem Zustand weder eine hemmende noch eine lytische Wirkung zukam. Es wurde daher unverdünnt verwendet.

Komplement und hämolytisches System wurden mir, fertig ausgewertet, liebenswürdigerweise von der Universitätshautklinik überlassen.

Die Anstellung der Reaktion selbst erfolgte in der üblichen Weise. Die auf 0,25 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllte Serummenge wurde mit 0,25 ccm (1 : 10) verdünntem Meerschweinchenkomplement und 0,25 ccm Antigen gemischt und zur Bindung eine Stunde bei 37 Grad aufbewahrt. Alsdann wurde das hämolytische System in der Menge von 0,5 ccm hinzugesetzt und das Ganze so lange im Brutschrank belassen, bis die beigegebene Systemkontrolle (Kochsalzlösung 0,5 ccm, Komplement 0,25 ccm, Hämolytisches System 0,5 ccm) komplette Auflösung der roten Blutkörperchen zeigte.

Um eine etwa vorliegende Eigenhemmung des Serums zu erkennen, wurde im Parallelversuch die gleiche Reihe der Serumverdünnungen ohne Antigen mit Komplement und hämolytischem System angesetzt. Die Brauchbarkeit des Antigens wurde durch einen Versuch mit einem durch intravenöse Injektion gewonnenen Choleraserum erwiesen.

Betrachten wir die Tabelle I, in der das Ergebnis des Versuches zusammengestellt worden ist, so müssen wir feststellen, daß bei allen sechs Versuchstieren komplementbindende Antikörper gebildet worden sind. Allerdings ist das Ergebnis gegenüber dem bei einem in der üblichen Weise durch intravenöse Injektion hergestellten Choleraserum nicht sehr stark. Vollkommene Hemmung war überhaupt nicht vorhanden; die bindende Kraft von 0,1 ccm entsprach der von 0,0025 ccm des durch intravenöse Immunisierung gewonnenen Serums. Der Erfolg ist bei allen Tieren ziemlich gleichmäßig; von einer stärkeren Antikörperbildung bei den Tieren (Kaninchen 67 und 69), bei denen die Fütterung wiederholt wurde, kann nicht gesprochen werden.

Untersuchung auf bakteriolytische Antikörper.

Den Hauptwert der Untersuchung legte ich auf den Nachweis von bakteriolytischen Antikörpern. Zwar ist die Bildung von agglutinierenden und komplementbindenden

Tabelle I.
Komplementbindungsversuch.

	Bezeichnung des Serums	Sera (entnommen vor der Immunisierung) Serummengen: 0,1	0,05	0,025	0.0125	0.006	Sera (entnommen 14 Tage nach der Immunisierung) Serummengen: 0,1	0.05	0.025	0 0125	0.006	Sera (entnommen 8 Wochen nach der Immunisierung) Serummengen: 0.1	0.05	0.025	0,0125	0,006
1.	K. 66 Versuch	(+)	0	0	0	0	-+-	(+)	(+)	(+)	±	+	(+)	+	(±)	0
	Ser.Contr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	K. 67 Versuch	0	0	0	0	0	++	+	(+)	(+)	±					
	Ser.Contr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
3.	K. 69 Versuch	(+)	±	0	0	0	++	+	+	(+)	±	(+)	±	0	0	0
	Ser.Contr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	K. 70 Versuch	(+)	0	0	0	0	++	+	0	0	0					
	Ser.Contr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
5.	K. 71 Versuch	(±)	0	0	0	0	++	+	±	0	0	(+)	±	(±)	0	0
	Ser.Contr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.	H. 120 Versuch	(±)	0	0	0	0	++	+	+	±	(±)	(+)	±	(±)	0	0
	Ser.Contr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7.	H. 48 Versuch						++	+	+	(+)	±					
	Ser.Contr.						0	0	0	0	0					

Vergleichsversuch mit einem durch intravenöse Injektion gewonnenen Choleraserum

	Serummengen: 0,02	0,01	0.005	0.0025	0 001
Versuch	+++	+++	+++	++	++
Ser. Contr.	0	0	0	0	0

Anmerkung: +++ bedeutet komplette Bindung, 0 vollkommene Lyse.

K. 66 u. H. 120 wurden nur einmal gefüttert mit den 3 Dragées, K. 70 u. K. 71 erhielten die 3 Dragées in 5tägigem Abstand, bei K. 67 u. K. 69 wurde die Immunisierung nach 10 Tagen Zwischenraum wiederholt. Die Tiere erhielten also 6 Dragées

H. 48 erhielt die NaCl-Lösung (0.8%) aufgelösten Dragées subcutan einverleibt.

Antikörpern als Ausdruck einer spezifischen Immunität anzusehen; ihnen kommt aber nur ein diagnostischer Wert zu. Von den bakteriolytischen Antikörpern hingegen glauben wir, daß sie im Abwehrkampfe des Organismus gegen eingedrungene Krankheitserreger eine wesentliche Rolle durch die Vernichtung der Bakterien spielen und somit eine der Hauptschutzkräfte des Körpers darstellen.

Die Messung der bakteriziden Kraft der Sera erfolgte nach den Vorschriften des Pfeifferschen Versuches. Als Antigen wurde wieder der Vibrio El Tor verwandt, dessen Virulenz durch Tierpassage soweit erhöht worden war, daß $^1/_6$ Normalöse Kultur bei intraperitonealer Einverleibung ein Meerschweinchen von 200 gr binnen 24 Stunden sicher tötete. Da von vornherein keine sehr großen Erfolge hinsichtlich des bakteriziden Titers der Seren erwartet wurden, setzte ich die Versuche mit einer Serummenge von 0,1 ccm an, während der durchschnittliche Titer eines parenteral mit $^1/_{50}$ Normalöse immunisierten Tieres 0,0001 beträgt. Jedes Serum wurde, wie aus Tabelle II hervorgeht, einzeln untersucht. Die Ergebnisse sind vollkommen gleich-

Tabelle II.

Prüfung auf das Vorhandensein von bakteriziden Antikörpern im Pfeifferschen Versuch.

Cholera Antigen El Tor:

Bezeichnung der Seren	Sera entnommen 14 Tage nach d. Immunisierung. Bakterizider Serumtiter	Sera entnommen 8 Wochen nach d. Immunisierung. Bakterizider Serumtiter
1. K. 66	> 0,1	> 0,1
2. K. 69	> 0,1	> 0,1
3. K. 70	> 0,1	
4. K. 71	> 0,1	> 0,1
5. H. 120	> 0,1	> 0,1
6. K. 67	> 0,1	
7. H. 48	> 0,1	

Anmerkung: > 0,1 war unwirksam, stärkere Konzentrationen wurden nicht geprüft.

mäßig, völlig negativ. Der Verlauf, der durch mehrfach vorgenommene Punktionen beobachtet wurde, zeigte eindeutig, daß selbst diese große Menge von Serum nicht imstande war, die einzelnen Vibrionen aufzulösen, geschweige denn, die Vermehrung der Vibrionen in der Bauchhöhle zu hemmen. Daß der Tod tatsächlich durch die Vibrionen hervorgerufen worden war, stellte ich in jedem Versuch durch Untersuchung der bei der Sektion entnommenen Peritonealflüssigkeit fest, die, auf eine Agarplatte ausgestrichen, nach Bebrütung reichliches Wachstum von Vibrionenkolonien in Reinkultur ergab.

Das Ergebnis bei dem Serum des Tieres, welches die aufgelösten Dragées subcutan gespritzt erhalten hatte, ist auch hier nicht anders, es ist ebenfalls völlig negativ ausgefallen.

Versuche mit dem Typhusimpfstoff.

Die Versuche mit dem Typhusimpfstoff wurden am Menschen durchgeführt. Von Tierversuchen wurde Abstand genommen, da erstens der Mensch auf Immunisierung gegen Typhus besser reagiert, vor allem mit der Bildung bakterizider Antikörper, und zweitens es mir wünschenswert erschien, meine Untersuchungen am Menschen auszuführen, bei dem der Impfstoff ja auch praktisch angewendet werden soll. Zehn Studenten haben sich mir liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt und den Impfstoff nach Vorschrift an drei aufeinanderfolgenden Tagen morgens nüchtern eingenommen. Irgendwelche Beschwerden haben sie durch die Einnahme des Präparates nicht gehabt. Vor der Immunisierung entnahm ich ihnen Blut aus der Armvene, um es für Kontrollzwecke zur nachherigen Feststellung eventuell schon vorher positiver Immunitätsreaktionen zu haben. Auch hier wurde zwei und acht Wochen nach der Immunisierung Blut zur Prüfung auf agglutinierende, komplementbindende und bakteriolytische Antikörper entnommen.

Untersuchung auf Agglutinine.

Die Untersuchungen auf Agglutinine, bei der die Technik die gleiche war, wie sie schon weiter oben bei der Untersuchung der Choleraseren beschrieben worden ist, wurden mit dem Typhusstamm Kupsch durchgeführt, dessen Brauchbarkeit als agglutinables Antigen seit Jahren im Hygienischen Institut praktisch erprobt worden ist. Die erzielten Erfolge gehen aus Tabelle III hervor.

Tabelle III.
Typhus-Agglutination:
Antigen Stamm Kupsch.

Bezeichnung des Serums	Sera, entnommen vor der Immunisierung					Sera, entnommen 14 Tage nach der Immunisierung					Sera, entnommen 8 Wochen nach der Immunisierung:				
	Serumverdünnung:					Serumverdünnung:					Serumverdünnung:				
	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
1. Feuer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—					
2. Gierth	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Goretzki	—	—	—	—	—	(+)	±	(±)	—	—	++	(+)	±	—	—
4. Gregori	—	—	—	—	—	±	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
5. Glunz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
6. Hartmann	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	±	(±)	—	—	—
7. Herfert	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	—	—	—
8. Lathwesen	—	—	—	—	—	±	(±)	—	—	—					
9. Seidel	—	—	—	—	—	(+)	±	(±)	—	—	+	+	±	—	—
10. Szczodrowski	—	—	—	—	—	(±)	—	—	—	—					

Wir erkennen, daß von den zehn Seren, die zwei Wochen nach der Immunisierung entnommen worden sind, sieben Sera in geringem Maße Agglutinine gebildet haben. Es sind dies die Seren 2, 3, 4, 6, 8, 9 und 10. Drei Seren zeigen bei der zwei Wochen nach der Immunisierung erfolgten Entnahme keine Bildung von Agglutininen. Bei der Nachuntersuchung von sieben Sera acht Wochen nach der Immunisierung zeigen die Sera zwei und vier schon einen Rückgang des Agglutinationsvermögens. Bei fünf und sieben ist eine nachträgliche Bildung von Agglutininen erkennbar. Die anderen Sera zeigen keinen Unterschied gegenüber denen, die 14 Tage nach der Immunisierung entnommen worden waren. Das Agglutinationsvermögen ging über eine Serumverdünnung von 1 : 80 $\pm$ nicht hinaus.

Prüfung auf komplementbindende Antikörper.

Die Herstellung des Antigens und die Technik des Komplementbindungsversuches war die gleiche, wie sie oben bereits bei dem Cholerakomplementbindungsversuche angegeben worden ist. Als Antigen wurde auch hier der Typhusstamm Kupsch verwendet. Im Vorversuch wurde wieder geprüft, in welcher Konzentration das Antigen nicht mehr hemmend wirkt. Auch hier erwies sich, daß das Antigen in der Konzentration, wie wir es gewonnen hatten, verwendet werden konnte. Die Wirksamkeit des Antigens ergab eine Prüfung mit einem parenteral hergestellten gut agglutinierendem Serum, das noch in einer Menge von 0,002 ccm komplette Hemmung zeigte. Das Ergebnis ist in seinen Einzelheiten aus Tabelle IV zu ersehen.

Hier zeigen schon bei den vor der Immunisierung entnommenen Seren Nr. 1, 3, 4, 6 und 9 eine spezifische Hemmung, während bei Serum 2, 5 und 8 eine Eigenhemmung des Serums zu beobachten ist. Bei der Prüfung der zehn Tage nach der Immunisierung entnommenen Seren, zeigten 1 und 3 eine beträchtlichere, 4 und 7 eine geringe Zunahme des komplementbindenden Vermögens. Die Prüfung mit den acht Wochen nach der Immunisierung gewonnenen Seren ergab dann teilweise wieder einen Abfall (1 und 2), teilweise ein Gleichbleiben der Reaktion. Im großen ganzen aber sind die Ergebnisse schwankend und die Bewertung durch das unregelmäßige Auftreten der eigenhemmenden Wirkung verschiedener Seren sehr erschwert.

Tabelle IV. Komplementbindungsversuch: Typhus-Antigen, Stamm Kupsch.

Bezeichnung des Serums:	I. Sera (entnommen vor der Immunisierung)						II. Sera (entnommen 14 Tage nach der Immunisierung)						III. Sera (entnommen 8 Wochen nach der Immunisierung)					
	Serummenge:						Serummenge:						Serummenge:					
	0,05	0,025	0,0125	0,006	0,002	0,001	0,05	0,025	0,0125	0,006	0,002	0,001	0,05	0,025	0,0125	0,006	0,002	0,001
Versuch 1. Gierth	+	(+)	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0
Ser. Contr.	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Versuch 2. Goretzki	+++	+++	++	++	+	(+)	+++	+++	+++	++	+	(+)	0	0	0	0	0	0
Ser. Contr.	++	++	+	+	(+)	±		+	(+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Versuch 3. Glunz	++	+	+	(+)	0	0	+++	+++	++	+	(+)	0	+++	+++	++	+	(+)	0
Ser. Contr.	0	0	0	0	0	0		+	(+)	0	0	0						
Versuch 4. Gregori	+	+	(+)	0	0	0	++	++	+	(+)	0	0	+++	++	+	0	0	0
Ser. Contr.	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Versuch 5. Hartmann	+++	+++	+++	++	+	(+)	+	(+)	0	0	0	0	+++	+	0	0	0	0
Ser. Contr.	++	++	+	+	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Versuch 6. Herfert	+++	++	+	(+)	±	0	+++	+++	++	++	+	(+)	+++	++	0	0	0	0
Ser. Contr.	0	0	0	0	0	0		+++	++	+	(+)	0	0	0	0	0	0	0
Versuch 7. Lathwesen	0	0	0	0	0	0	+	(+)	±	±	0	0						
Ser. Contr.	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0						
Versuch 8. Szcodrowski	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	++	++	+	(+)	±						
Ser. Contr.		++	(+)	±	±	0		++	+	0	0	0						
Versuch 9. Feuer	+++	++	+	(+)	0	0	+	+	(+)	±	0	0						
Ser. Contr.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
Versuch 10. Seidel													++	0	0	0	0	0
Ser. Contr.													0	0	0	0	0	0

Anmerkung: +++ bedeutet komplette Bindung, 0 bedeutet vollkommene Lyse.

Untersuchung auf bakteriolytische Antikörper.

Die Prüfung auf bakteriolytische Antikörper erfolgte wie bei den Choleraseren im Pfeifferschen Versuch mit Meerschweinchen von 250 gr. Als Antigen diente ein Typhusstamm „Lumbal", dessen Dosis letalis minima $^1/_6$ Normalöse war. Zum Versuch wurde eine Normalöse einer 18stündigen Plattenkultur in 1 ccm einer Serumverdünnung 1 : 10 (bei den ersten drei Versuchen 1 : 20) verrieben und dem Tier intraperitoneal einverleibt. Im hängenden Tropfen wurde auch hier der Versuchsverlauf verfolgt. Der Versuch verlief völlig negativ. Sämtliche Tiere gingen unter den schwersten Krankheitserscheinungen zugrunde. Die kulturelle Prüfung des nach dem Tode entnommenen Peritonealexsudates ergab zahlreiche Kolonien von Typhusbazillen in Reinkultur. Von einer Bildung bakterizider Antikörper kann demnach auch hier keine Rede sein.

Tabelle V.

Prüfung auf das Vorhandensein von bakteriziden Antikörpern im Pfeifferschen Versuch.

Typhus-Antigen „Lumbal".

Bezeichnung des Serums	I. Sera, entnommen 14 Tage nach der Immunisierung: Bakterizider Serumtiter	II. Sera, entnommen 8 Wochen nach der Immunisierung: Bakterizider Serumtiter
1. Goretzki	> 0,05	> 0,1
2. Seidel	> 0,05	> 0,1
3. Herfert	> 0,05	> 0,1
4. Hartmann	> 0,1	> 0,1
5. Gregori	> 0,1	> 0,1
6. Feuer	> 0,1	
7. Lathwesen	> 0,1	
8. Gierth	> 0,1	> 0,1
9. Glunz	> 0,1	> 0,1
10. Szczodrowski	> 0,1	

Anmerkung: > 0,05 war unwirksam, stärkere Konzentrationen wurden nicht geprüft.

So lange wir auf dem Standpunkt stehen müssen und stehen, daß die spezifischen Veränderungen des Serums als der Ausdruck einer vorhandenen Immunität anzusehen sind, müssen wir verlangen, daß diese Veränderungen als Folge einer aktiven Immunisierung nachzuweisen sind. Wenn auch der von mir untersuchte Impfstoff die Bildung von Agglutininen und komplementbildenden Antikörpern bewirkt, so geschieht das doch nur unregelmäßig und im Vergleich zur parenteralen Immunisierung in sehr geringem Grade. Nehmen wir noch hinzu, daß die als Immunitätsreaktion besonders hoch zu wertenden bakteriziden Antikörper überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten, so müssen wir sagen, daß auch der Typhus- und Cholera-L-Impfstoff unseren gestellten Anforderungen nicht genügt. Auch dieser Impfstoff ist nicht geeignet, an die Stelle der erprobten subcutanen Immunisierung zu treten.

Zusammenfassung.

Es wurde von mir der von der I. G.-Farbenindustrie herausgebrachte Typhus- und Cholera-L-Impfstoff, der aus einer im Vakuum eingedampften Kultur von Bakterien besteht, denen ein apathogener Keim aufgeimpft worden ist, daraufhin untersucht, ob er die Bildung humoraler Antikörper veranlaßt. Ich prüfte auf die Bildung von Agglutininen, komplementbindenden und bakteriolytischen Antikörpern, und zwar im Tierversuch (Cholera) wie auch im Menschenversuch (Typhus). Wenn auch teilweise die Entstehung agglutinierender und komplementbindender Stoffe nachgewiesen werden konnte, so waren deren Mengen doch im Vergleich zur parenteralen Immunisierung sehr gering. Bakterizide Antikörper waren überhaupt nicht vorhanden. Es kann daher auch dieser Impfstoff nicht als ein vollgültiger Ersatz für die subcutane Immunisierung angesehen werden.

Herrn Professor Dr. Lubinski für die Stellung des Themas und die vielfache Anregung meinen ergebensten Dank zu sagen, ist mir eine angenehme Pflicht.

Literatur-Verzeichnis

1. Besredka: Ann. d. l'inst. Pasteur, 1918, S. 199; 1919, S. 301.

2. Burke und La Verne Barnes: J. of. inf. Dis., 1926, Bd. 39, S. 67.

3. Paul Ehrlich: D. m. W., 1891, S. 976.

4. Engelhardt und Ray: Z. Hyg., 1927, Bd. 107, S. 663.

5. Hoffstädt, Martin und Thompson: Americ. Journ. of Hyg., 1929, Bd. 9, S. 1.

6. Istrati und Sefeanesco: C. r. Soc. Biol., 1930, Bd. 105, S. 912, ref. C. f. B., I R, Bd. 101, S. 389.

7. Löffler: v. Leuthold, Gedenkschrift Bln., 1906, Bd. 1, S. 247, ref. C. f. B., 1908, I R Bd. 41, S. 163.

8. Lubinski: D. m. W., 1930, S. 1291.

9. Lusena und Rovida: Boll. del l'istit. sieroterap. Milanese, 1926, Bd. 5, S. 19, ref. Zbl. f. ges. Hyg., 1927, Bd. 13, S. 528.

10. Masaki: Ann. de l'inst. Pasteur, 1922, S. 399.

11. Morison, Naidu und Avari: zit. nach Lubinski, D. m. W., 1930, S. 1291.

12. Ottolenghi und Brotzu: Z. f. Immunitätsforsch., 1930, Bd. 65, S. 195.

13. Paetsch: Z. f. Bakt., I O, 1911, Bd. 60, S. 255.

14. Pfeiffer und Lubinski: Z. f. Bakt., I O, 1930, Bd. 118, S. 152.

15. Pijper und Dau: The Brit. jour. of exp. Pathol., 1930, Bd. 11, S. 112.

16. Reiter: D. m. W., 1926, S. 946.

17. Rosa: C. f. B., I O, 1929, Bd. 95, S. 56.

18. Srodowski: Russ. Bakteriol. Kongr., Leningrad, 1924, zit. nach Engelhardt und Ray.

19. Wassermann und Citron: D. m. W., 1905, S. 537.

20. Yoshida: A. f. Hyg., 1909, Bd. 69, S. 21.

21. Zoboli: Policlinico Sez. med., 1928, Bd. 35, S. 653, ref. Zbl. f. d. ges. Hyg., 1929, Bd. 19, S. 686.

Lebenslauf

Geboren am 10. April 1909 in Breslau, besuchte ich die Gerhart-Hauptmann-Oberrealschule und bestand dort Ostern 1927 die Reifeprüfung. Hierauf studierte ich Zahnheilkunde, und zwar vom S.-S. 1927 bis S.-S 1928 in Breslau, im W.-S. 1928/29 in Paris und Bordeaux, von da bis zum W.-S. 1930/31 wieder in Breslau. Dort beendete ich im Januar 1931 mein Staatsexamen.